

**University of Groningen**

## **Epithelial and subepithelial players in chronic intestinal disease**

Cui, Yingying

*DOI:*  
[10.33612/diss.127963656](https://doi.org/10.33612/diss.127963656)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Cui, Y. (2020). *Epithelial and subepithelial players in chronic intestinal disease*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.127963656>

### **Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### **Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

## 总结

肠上皮和上皮下层形成了人类肠道的主要屏障，具有两个主要功能：1) 从饮食中吸收必需营养素，同时 2) 保护人体免受肠腔内潜在有害和/或感染性物质的损伤。许多肠道的慢性疾病与这些有害物质对肠道上皮和上皮下层的毒性作用有关，进而导致肠道功能障碍，例如肠道肿瘤，慢性肠道炎症和肠道纤维化。吸烟是众所周知的导致结肠癌和克罗恩病（CD）的危险因素，但鲜为人知的是，肠腔中香烟烟雾衍生的化合物的浓度通常高于吸烟者血液中的浓度。因此，吸烟对肠道上皮和上皮下层是严重的威胁。但是，目前尚不清楚香烟烟雾是如何直接影响人的肠道上皮和上皮下层细胞功能的。此外，吸烟还会加重 CD 的严重程度，其特征是增大了肠道纤维化的发病风险。本文着眼于香烟烟雾对人肠道上皮和上皮下细胞（成肌纤维细胞）的影响，并分析了抗纤维化药物吡非尼酮的抗肠道纤维化的作用。

第 2 章使用人类肠道类器官和 3 维（3D）Caco-2 细胞模型研究了香烟烟雾提取物（CSE）对肠道的上皮细胞形态发生，再生，极性和屏障功能的影响。我们的结果表明，CSE 会影响肠道干细胞的增殖和分化功能并导致肠上皮细胞的极化功能受损，从而引起肠道的上皮细胞的形态和功能异常。此外，CSE 诱导的效应会影响至子代的肠道细胞，提示 CSE 对肠道可能引起了不可逆转的影响。但是，CSE 不会干扰肠道类器官的极性发展或损害其屏障功能，这表明肠道上皮组织比肺上皮组织更能抵抗 CSE 带来的损伤。此外，CSE 不会干扰预先已经形成的 Caco-2 球状体的形态和极性，这表明 CSE 对肠上皮细胞的影响可能与形态发生和极性重建有关，例如在创伤愈合过程中。这项研究表明，CSE 暴露会对肠道上皮细胞产生迅速且持久的影响，这可能是吸烟增加结肠癌患病风险的基础之一。

吸烟也是慢性肠道炎症的危险因素，例如在 CD 中。在第 3 章中，我们分析了吸烟/CSE 对炎症肠病（IBD）患者和人原代肠成纤维细胞（p-hIFs）中血管粘附蛋白 1（VAP-1；由 AOC3 基因编码）表达的影响，以明确具有免疫调节性的 VAP-1 蛋白是否参与了肠道炎症和/或纤维化的致病机制。我们发现，与不吸烟的 CD 患者

相比，吸烟的 CD 患者结肠组织中的 *AOC3* 表达水平明显更高。并且，CD 患者肠道组织中的 *AOC3* 表达水平与 *COL1A1* 和 *ACTA2* 水平（纤维化标记物）显著相关。相一致地，*VAP-1* 与  $\alpha$ SMA 在肠道上皮层中的肌成纤维细胞中共定位，并且这种现象在纤维化的肠道部分更加显著。与患者研究数据一致，CSE 暴露诱导原代人肠成纤维细胞（p-hIFs）中 *AOC3* 表达，但是，它并未改变 p-hIFs 中 *COL1A1* 和 *ACTA2* 的表达水平。结果提示，香烟烟雾可能会通过诱导免疫调节性 *VAP-1* 从而加剧肠道炎症并促进 CD 中结肠纤维化的发生，但不会直接增强肠道成纤维细胞的纤维化表型。在研究第 3 章的同时，我们新近鉴定并表征了表达免疫调节 *VAP-1* 的肠内分泌细胞亚型。除了在肠道粘膜的内皮细胞，平滑肌细胞和上皮肌成纤维细胞发现了典型的 *VAP-1* 染色外，在第 4 章，我们还在健康结肠、回肠和空肠组织中以及在 IBD 病人的非病变组织、炎症组织和纤维化组织中，观察到了单个 *VAP-1*<sup>+</sup> 肠上皮细胞（IEC）。通过对组织连续切片进行免疫组织化学分析和免疫荧光共染色，我们证明了 *VAP-1* 在嗜铬粒蛋白 A<sup>+</sup> 的肠道内分泌细胞的亚型中表达。在体外，相对于未分化的结肠类器官，已诱导分化的人结肠类器官中的 *CHGA* /嗜铬粒蛋白 A 和 *AOC3* / *VAP-1* 的表达增加，这两种蛋白均积累在类器官的基底外侧，这可能与肠内分泌细胞的激素分泌和/或免疫调节有关。接下来会针对 *VAP-1* 在肠内分泌细胞中的功能开展研究。

肠道纤维化是慢性肠道炎症的严重并发症，迫切需要有效的抗纤维化药物治疗法。第 5 章研究了吡非尼酮对 p-hIF 的作用。我们发现吡非尼酮剂量依赖性地抑制 p-hIF 增殖和细胞外基质（ECM）的标记物的表达，具体包括 *COL1A1*，*COL3A1*，*COL4A1*，*COL6A1*，*FN1* 和 *ELN*。*TGF $\beta$ 1* 是纤维化发生中的关键细胞因子，可强烈诱导 p-hIF 中 I 型胶原的产生表达，而吡非尼酮可有效地抑制 *TGF $\beta$ 1* 的作用。我们还发现，吡非尼酮对 p-hIF 增殖和 I 型胶原产生的抑制作用是可逆的。之前的研究表明，雷帕霉素（mTOR）信号转导途径和器官纤维化有关，但尚未针对肠道纤维化进行过详细分析。我们证明了吡非尼酮通过抑制 mTOR 和下游 p70S6K 途径在 p-hIFs 中发挥作用。我们得出的结论是，吡非尼酮直接抑制 p-hIFs 增殖并通过抑制 *TGF- $\beta$ 1* / mTOR / p70S6K 信号通路减少 I 型胶原的产生，这为治疗肠纤维化提供了新的靶标。

肠道炎症，纤维化和癌症这些慢性肠道疾病会严重影响患者的生活，给医疗保健系统带来沉重的负担，需要更好地了解这些疾病的潜在机制以开发有效的治疗方法。人类肠道类器官和人原代肠道成纤维细胞是目前可用于研究来源于肠上皮和上皮下层疾病并用于药物研发的工具。

